

# Kontracepcija i hormonsko nadomjesno liječenje s estetrolom

---

**Stanković, Tina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:132425>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-06-20**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

Tina Stanković

**KONTRACEPCIJA I HORMONSKO NADOMJESNO LIJEČENJE S ESTETROLOM**

Diplomski rad



Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za ginekologiju i opstetriciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, pod vodstvom prof.dr.sc. Dinke Pavičić Baldani, dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA I AKRONIMA

APC - aktivirani protein C ( od engl. *activated protein C*)  
BMD - mineralna gustoća kostiju ( od engl. *bone mineral density*)  
CBG - globulin koji veže kortikosteroide ( od engl. *corticosteroid-binding globulin*)  
DRSP - drospirenon  
E1 - estron  
E1S - estron sulfat  
E2 - estradiol  
E3 - estriol  
E4 - estetrol  
EE - etinil estradiol  
ER - estrogenski receptor  
ERE - elementi odgovora na estrogene ( od engl. *estrogen response element* )  
FSH - folikul-stimulirajući hormon  
GnRH - gonadotropin-oslobađajući hormon ( od engl. *gonadotropin-releasing hormone*)  
HDL - lipoprotein visoke gustoće ( od engl. *high-density lipoprotein*)  
LDL - lipoprotein niske gustoće ( od engl. *low-density lipoprotein*)  
LH - luteinizirajući hormon  
LNG - levonorgestrel  
MISS - od engl. *membrane-initiated steroid signaling*  
nAPCsr - od engl. *normalized APC sensitivity ratio*  
NEST - od engl. *native estrogen with selective action in tissues*  
NO - dušikov monoksid ( od engl. *nitric oxide*)  
OH skupina - hidroksilna skupina  
PR - progesteronski receptor  
RAAS - renin-angiotenzin-aldosteronski sustav  
SAD - Sjedinjene Američke Države  
SERM - selektivni modulator estrogenskih receptora ( od engl. *selective estrogen receptor modulator*)  
SHBG - globulin koji veže spolne hormone ( od engl. *sex hormone binding globulin*)  
TBG - globulin koji veže tiroksin ( od engl. *thyroxine-binding globulin*)  
VLDL - lipoprotein vrlo niske gustoće ( od engl. *very-low-density lipoprotein*)  
VMS - vazomotorni simptomi  
VTE - venska tromboembolija  
tPA - tkivni aktivator plazminogena ( od engl. *tissue plasminogen activator*)

## Sadržaj

1. SAŽETAK	
2. SUMMARY	
3. UVOD .....	1
4. ESTETROL.....	2
4.1. Farmakološka svojstva.....	3
4.2. Mehanizam djelovanja E4 .....	6
4.3. Estrogenski učinak na tkiva .....	7
5. OPĆENITO O ORALNOJ KONTRACEPCIJI .....	10
5.1. Razvoj estrogenske sastavnice kombinirane hormonske kontracepcije.....	10
5.2. Razvoj progestinske sastavnice kombinirane hormonske kontracepcije.....	12
6. NOVA KOMBINIRANA ORALNA HORMONSKA KONTRACEPCIJA KOJA SADRŽI E4 ..	13
6.1. Učinak na inhibiciju ovulacije i kontrolu ciklusa .....	13
6.2. Učinak na enzime i serumske proteine .....	15
6.3. Učinak na metabolizam lipida .....	16
6.4. Učinak na hemostazu .....	17
6.5. Učinak na tjelesnu težinu i zadovoljstvo korisnica .....	17
7. OPĆENITO O HORMONSKOM NADOMJESNOM LIJEČENJU .....	18
7.1. Učinak hormonskog nadomjesnog liječenja na simptome povezane s menopauzalnom tranzicijom i postmenopauzom.....	19
7.2. Nuspojave hormonskog nadomjesnog liječenja .....	20
8. HORMONSKO NADOMJESNO LIJEČENJE KOJE SADRŽI E4 .....	22
8.1. Učinak na tkivo dojke i endometrij.....	22
8.2. Učinak na koagulaciju i metabolizam lipida .....	25
8.3. Učinak na koštano tkivo .....	27
9. ZAKLJUČAK.....	28
10. LITERATURA.....	29
11. ŽIVOTOPIS .....	39

# 1. SAŽETAK

## Kontracepcija i hormonsko nadomjesno liječenje s estetrolom

**Tina Stanković**

Obzirom na neupitne dobrobiti hormonskog nadomjesnog liječenja i oralne hormonske kontracepcije, postoji klinička potreba za uvođenjem novih estrogenskih formulacija koje imaju manji rizik nastanka venskih tromboembolija i manji utjecaj na proliferaciju tkiva dojke. Prikupljeni podaci iz provedenih pretkliničkih i kliničkih istraživanja podupiru estetrol kao obećavajući prirodni estrogen koji bi ispunio navedena očekivanja.

Oralni kontraceptivi koji sadrže kombinaciju estetrola i drospirenona pokazali su bolju prihvaćenost i tolerabilnost među korisnicama u odnosu na oralne kontraceptive koji sadrže etinil estradiol kao estrogensku sastavnicu. E4/ DRSP učinkovito inhibira ovulaciju te pokazuje obećavajuće rezultate po pitanju obrazaca krvarenja i kontrole menstruacijskog ciklusa. Navedena kombinacija hormona također ima poželjan dobrobitni učinak na lipidni profil, jetru, razinu SHBG te metabolizam ugljikohidrata. Sukladno takvim učincima, ovaj steroidni hormon postaje preferirana opcija zbog smanjenog rizika za kardiovaskularne događaje poput duboke venske tromboze. Također, provedena su istraživanja dovela do zaključka da E4 zbog svog neutralnog učinka na tkivo dojke pruža siguran terapijski prozor za ublažavanje simptoma menopauze, bez stvaranja dodatnog rizika za razvoj karcinoma dojke.

## **2. SUMMARY**

### **Contraception and hormone replacement therapy with estetrol**

**Tina Stanković**

Given the unquestionable benefits of hormone replacement therapy and oral hormone contraception, there is a clinical need to introduce new estrogen formulations that carry fewer venous thromboembolic risks and have less impact on breast tissue proliferation. The data collected from preclinical and clinical studies support estetrol as a promising natural estrogen that would meet these expectations.

Oral contraceptives containing a combination of estetrol and drospirenone have shown better acceptance and tolerance among users, compared to oral contraceptives containing ethinyl estradiol as an estrogenic component. E4 / DRSP effectively inhibits ovulation and shows promising results in terms of bleeding pattern and menstrual cycle control. This combination of hormones also has the desired effect on lipid profile, liver, SHBG levels and carbohydrate metabolism. Consistent with such effects, this steroid hormone is becoming the preferred option due to the reduced risk of cardiovascular incidents such as deep vein thrombosis. Also, the research has led to the conclusion that E4, due to its neutral effect on breast tissue, provides a safe therapeutic window for alleviating menopausal symptoms, without creating an additional risk for the development of breast tumors.

### 3. UVOD

Oralna hormonska kontracepcija je najčešće korišteni oblik reverzibilne kontracepcije diljem svijeta. Broj žena koje koriste kontracepciju u razvijenim zemljama je ostao relativno konstantan od 1982. godine, iznoseći približno 62% žena reproduktivske dobi, od čega više od 20% njih koristi upravo oralnu kontracepciju sa najvišom prevalencijom u europskim zemljama. (1) Broj žena koji koristi hormonsko nadomjesno liječenje u menopauzalnoj tranziciji i postmenopauzi procjenjuje se na otprilike 12 milijuna u zapadnim zemljama. (2)

S obzirom na ulogu koju oralni hormonski kontraceptivi i hormonsko nadomjesno liječenje imaju u ženskom reproduktivnom zdravlju i općem dobrom osjećanju, desetljećima je cilj bio pronaći farmaceutsko rješenje koje bi imalo manji rizik nastanka tromboembolijskih incidenata te manji utjecaj na proliferaciju tkiva dojke.

Estetrol je nedavno odobren u Sjedinjenim Američkim Državama, Europi, Kanadi i Australiji kao nova estrogenska sastavnica koja bi mogla ispuniti dugogodišnje pokušaje da se oralna hormonska kontracepcija i hormonsko nadomjesno liječenje učine što sigurnijima za uporabu. (3)



## 4. ESTETROL

Estrogen estetrol (E4) je ljudski steroid kojeg proizvodi fetalna jetra i to jedino tijekom trudnoće. Ovaj je prirodni estrogen otkriven u urinu trudnih žena 1965. godine na Institutu Karolinska u Stockholmu zahvaljujući Diczfalussyju i suradnicima. Estetrol ima strukturu estrogenog steroida sa 4 hidroksilne skupine, što objašnjava njegov akronim E4. Razlikuje se od drugih prirodnih estrogena po dodatnoj alfa hidroksi (OH) skupini na položaju 15 molekule. (4)

Proces 15- i 16-hidroksilacije se zbiva isključivo u fetalnoj jetri. Nakon sinteze u fetalnoj jetri, estetrol u cirkulaciju majke dopijeva preko posteljice. Estetrol se detektira već u 9. tjednu trudnoće u urinu trudnica. Tijekom drugog trimestra trudnoće detektirane su visoke razine E4 u plazmi majke, sa konstantnim porastom koncentracije nekonjugiranog E4 sve do otprilike 1 ng/mL (3nmol/L) koji se bilježi pri kraju trudnoće. (5) Nakon rođenja, jetra novorođenčeta brzo gubi sposobnost sinteze E4. Potencijalna upotreba E4 kao pokazatelja dobrog stanja fetusa bila je ekstenzivno istraživana 60-ih godina prošlog stoljeća. Međutim, s obzirom na velike intra- i interindividualne razlike koncentracije E4 u plazmi majke tijekom trudnoće, odustalo se od daljnjeg istraživanja E4 kao pokazatelja fetalnog zdravlja. (6) Do sada nije otkrivena fiziološka funkcija E4 tijekom trudnoće. Nekoliko desetljeća se E4 smatrao slabim estrogenom bez terapijskog potencijala. (7) Međutim, 2001.godine, Bennink i suradnici u Pantarhei Bioscience (Zeist, Nizozemska) pokrenuli su prekliničke i kliničke studije faze 1 koje su opisale jedinstveni profil aktivnosti E4 i njegovu prikladnost za terapijsku uporabu. (8) Počevši od 2009. godine, Pantarhei,

Mithra Pharmaceuticals i nekoliko akademskih skupina udružili su se u ispitivanju farmakoloških karakteristika E4 i njegovih molekularnih mehanizama djelovanja s ciljem razvoja E4 za terapijsku primjenu. Za ljudsku uporabu E4 je sintetiziran iz komercijalno dostupnog sojinog estrona, čistoće preko 99,9% (9) i bez kontaminacije. (10)

#### **4.1. Farmakološka svojstva**

Kako je već naglašeno, estetrol se razlikuje od drugih prirodnih estrogena po dodatnoj alfa hidroksi (OH) skupini na položaju 15 molekule. Pokazano je da ova strukturalna razlika ima važne implikacije, budući da jedna dodatna OH skupina u usporedbi s estriolom (E3) produljuje poluživot eliminacije u ljudskom tijelu, koji za E3 iznosi 10 minuta dok za E4 iznosi 20-28 sati. Poluživot E4 je također znatno duži od poluživota drugih prirodnih estrogena, uključujući prirodni  $17\beta$ -estradiol (E2) i mikronizirani E2, za koje su zabilježeni poluživoti od 1-2 sata i 10-12 sati. Također, E4 se učinkovitije apsorbira nakon oralne primjene od E2, iz razloga što značajno manje podliježe metabolizmu prvog prolaska. Ove značajke estetrola su važan preduvjet za njegov razvoj u smjeru oralnog primjenjivog lijeka koji se uzima jednom dnevno.

Utvrđeno je da je metabolizam estetrola u ljudskim hepatocitima spor. Aktivni metaboliti E4 ni do danas nisu otkriveni, a sam E4 se izlučuje u inaktivnom obliku putem jetre i bubrega prolazeći proces konjugacije sa sulfatom i/ili glukoronidom. U tom se pogledu E4 bitno razlikuje od E2, koji se nakon oralne primjene intenzivno metabolizira, i to pretežno u estron (E1) i estron sulfat (E1S), kao i u velik broj drugih metabolita deriviranih iz E1 i E2. (5) Za razliku od E2, E4 se ne pretvara u hidroksilirane metabolite, prekursore kinonskih estrogena koji mogu reagirati i oštetiti

DNK, što je povezano s razvojem raka dojke. (11) Štoviše, razine E1 u cirkulaciji povezane su sa stvaranjem trombina te su posljedično povezane s različitim profilima trombotičkog rizika između oralno i transdermalno primjenjene terapije estrogenima. (12) Za razliku od etinil estradiola (EE) i E2, enzimi citokroma P450 (CYP450) ne igraju glavnu ulogu u metabolizaciji E4 i E4 pokazuje minimalan utjecaj na glavne enzime CYP450. (13) Kao rezultat toga, E4 pokazuje manju interakciju s drugim lijekovima u odnosu na druge estrogene, uključujući EE i E2.

Kao što je i očekivano, s obzirom na visoke razine E4 tijekom trudnoće, čini se da je E4 vrlo siguran za primjenu u ljudi. U farmakološkim studijama na štakorima, u kojima su korištene doze do 10 mg/kg/dan tijekom 4 tjedna, E4 je pokazao dobar sigurnosni profil bez izazivanja relevantnih neželjenih učinaka. . Sigurnosni profil E4 dodatno je potvrđen u brojnim *in vitro* studijama koje su se bavile interakcijom E4 i ljudskih hepatocita, što je od posebnog značaja s obzirom na poznate nuspojave i interakcije estrogena sa metabolizmom jetrenih enzima. (5)

Nakon oralne primjene, E4 se brzo apsorbira postićući vršne razine 15-60 minuta nakon uzimanja. Poslije toga dolazi do naglog pada razine E4, nakon čega slijedi drugi šiljak koncentracije što upućuje na brzu distribuciju i reapsorpciju. Potom, 24 sata nakon primjene započinje polagana eliminacijska faza. Ovakav profil plazmatskih koncentracija E4 uočen je dosljedno kod ispitivanih zdravih žena u postmenopauzi te je prilično tipičan za enterohepatičnu cirkulaciju, za koju je poznato da se javlja kod primjene estrogenih steroida. Međutim, privremena pohrana u lipidnim tkivima ne može biti još potpuno isključena. Veliki i brzi o dozi-ovisan šiljak koncentracije E4 nakon oralne primjene mogao bi biti koristan za njegovu primjenu u indikacijama koje zahtijevaju klinički učinak koji nastupa bez odgode.

Što se tiče oralne primjene, farmakokinetičke i metaboličke karakteristike E4 se

značajno razlikuju od karakteristika estrogena koji su trenutno u uporabi, uključujući prirodne estrogene kao što su ljudski E2 i E3 i konjugirani konjski estrogen iz trudnih kobila te sintetske estrogene kao što je etinil estradiol.

Značajna razlika između ostalih ljudskih estrogena i E4 je poluživot eliminacije. Pokazalo se da poluživot E4 iznosi otprilike 28 sati, dok poluživoti E2 i E3 iznose 1-2 sata odnosno 20 minuta. Upravo iz tog razloga najšire upotrebljavani E2 mora biti mikroniziran ili esterificiran radi produljenja njegova poluživota, čime potom postaje prikladan za oralnu primjenu u ljudi, za razliku od E3 koji se može koristiti isključivo lokalno (vaginalno). Poluživot eliminacije etinil estradiola iznosi otprilike 20 sati. Iz tog razloga etinil estradiol ne zahtijeva modifikaciju i prikladan je za upotrebu u ljudi kao lijek koji se daje jednom dnevno; jednako se očekuje i za E4.

Estetrol se oralno apsorbira i bioraspoloživ je sa snažnim odgovorom ovisnim o dozi što ukazuje na visoku bioraspoloživost nakon oralne primjene. Interindividualne varijacije plazmatskih koncentracija su niske. Kombinacija niskih inter- i intraindividualnih varijacija plazmatskih koncentracija E4 i linearnosti doze otvara mogućnost da se povežu plazmatske koncentracije E4 sa kliničkim učincima te da se omogući individualna korekcija doze temeljenoj na plazmatskoj koncentraciji. Nevedeno je nemoguće kod svih trenutno dostupnih estrogena uključujući etinilestradiol. (14)

Nadalje, E4 ima određene karakteristike različite od ostalih estrogena, što ga čini prikladnim za upotrebu u sklopu hormonskog nadomjesnog liječenja ili kombinirane oralne hormonske kontracepcije. Suprotno od EE i E2, E4 se ne veže za globulin koji veže spolne hormone (SHBG) (2) niti povećava njegovu proizvodnju u jetrenim stanicama. Navedena karakteristika je jedinstvena za E4 i važna, budući da su samo estrogeni koji nisu vezani za biološke proteine aktivni i sposobni doseći

ciljna tkiva. (15)

Enterohepatična recirkulacija oralno primjenjenih estrogena povezana je s 2,5 puta povećanim rizikom od bolesti bilijarnog trakta. Čini se da se ovaj rizik ne odnosi na primjenu E4, s obzirom da on ne ulazi u enterohepatičnu cirkulaciju. E4 se izlučuje urinom u obliku prstenastog D monoglukuronida i inače je metabolički nepromijenjen.

(16) Sve navedeno govori u prilog jedinstvenog farmakokinetičkog profila E4 sa poželjnim značajkama koje čine osnovu za razvoj sigurnog oralnog farmaceutskog pripravka koji se primjenjuje jednom dnevno. (5)

## **4.2. Mehanizam djelovanja E4**

Pleiotropni učinci estrogena uglavnom su posredovani kroz dva estrogenska receptora: ER $\alpha$  i ER $\beta$ . Dva estrogenska receptora dijele strukturu domene koja se sastoji od šest domena, A-F. Središnja C domena se veže s visokim afinitetom i specifičnošću za specifične nuklearne elemente odgovora na estrogene (ERE). Različite su studije istraživale utjecaj E4 na nuklearne elemente odgovora na estrogene, poznate kao genomski signalizacijski put. Rezultati su pokazali da, u skladu s nižim afinitetom vezanja za ER $\alpha$ , E4 stimulira ERE uvjetovanu aktivaciju stanica sa 100 do 1000 puta nižom potencijom u odnosu na estradiol. (17,18) U *in vivo* ispitivanjima na miševima i štakorima, zabilježena je aktivacija ER $\alpha$  izazvana E4 na nekoliko tkiva uključujući proliferaciju epitela rodnice i endometrija, prevenciju koštane demineralizacije i vaskuloprotektivno djelovanje. (19–21) Osim genomskih signalnih putova, estrogene mogu regulirati ekspresiju membranskih gena MISS (*engl. Membrane-Initiated Steroid Signaling*) tj. ekstranuklearni ili negenomski put. Ovi su učinci posredovani preko skupa ER prisutnih na membrani ili u citoplazmi i

dovode do brzog aktiviranja sekundarnih glasnika koji, zauzvrat, izravno moduliraju biološke učinke kao što su proliferacija stanica, migracija ili invazija. Za razliku od drugih estrogena, kao što je E2, E4 je tkivno specifičan, antagonist ER $\alpha$ -ovisnih MISS putova. Primjerice, E4 antagonistički djeluje na aktivaciju MISS-a izazvanom s E2 u modelima raka dojke. Slično tome, zbog blokade ER $\alpha$  putem negenomskog učinka, za razliku od E2, ima neutralan učinak na jetru (nikakav ili minimalan učinak na SHBG, angiotenzinogen, čimbenike koagulacije i razine triglicerida u plazmi). (22) Kao što je ranije navedeno, E4 aktivira nuklearni receptor ER $\alpha$ , ali je za razliku od ostalih estrogena antagonist membranskog receptora ER $\alpha$ , zbog čega se smatra prvim prirodnim estrogenom sa selektivnim djelovanjem na tkiva (*engl. Natural Estrogen with Selective Action in Tissues*, NEST). (4)

### **4.3. Estrogenski učinak na tkiva**

Estetrol ima različiti učinak na različita tkiva, zahvaljujući agonističkom, odnosno antagonističkom djelovanju na ER. U dobro validiranim, prediktivnim štakorskim modelima pokazano je da E4 ima estrogenski agonistički utjecaj na rodnicu, endometrij, miometrij, kost i mozak. Studija je pokazala pozitivan učinak E4 na mineralnu gustoću kostiju (BMD), mehaničku snagu kostiju i vrijednosti osteokalcina. (23)

U postmenopauzalnih žena je uočeno kako E4 uzrokuje o dozi ovisan pad razine markera resorpcije kosti ( C-telopeptid) te pad razine markera formacije kosti (osteokalcin). Serumski osteokalcin proizvode gotovo isključivo osteoblasti i osjetljiv je marker formacije kosti koji korelira sa histomorfometričkim mjerenjima formacije kosti učinjenima u uzorku bioptata kosti. C-telopeptid je osjetljiv biomarker

degradacije i pregradnje kosti. Međutim, zamijećeno je kako je inhibitorni učinak E4 ipak bio izraženiji na proces resorpcije kosti, sugerirajući mogućnost pozitivne formacije kosti. (24)

Pokazano je da ovarijektomirani štakori liječeni sa E4 imaju povišenu razinu alopregnanolona i beta endorfina u različitim regijama mozga. Ekspresija navedenih neurosteroida se smanjuje kada su zajednički primjenjeni E4 i E2. (25)

Poznto je da estrogeni imaju vaskuloprotektivno i kardioprotektivno djelovanje: sprječavaju aterosklerozu, smanjuju hipertenzivne učinke ovarijektomije, smanjuju starenjem uvjetovano smanjenje elasticiteta krvnih žila, povećavaju stvaranje NO, sprječavaju posttraumatsku hiperplaziju intime. Pokazalo se da E4 ima slično vaskuloprotektivno djelovanje kod miševa, zahvaljujući vezivanju s ER $\alpha$ . Studije su pokazale dobrobitni učinak na kardiovaskularni sustav preko povećanja stvaranja NO, vazodilatacije, odnosno prevencije ateroskleroze, zadebljanja intime i hipertenzije. (6) U fazi 2 kliničkih ispitivanja, kombinacija E4/DRSP imala je ograničeni učinak na stimulaciju RAAS sustava. (26) Ostali estrogeni stimuliraju RAAS, a pojačana stimulacija navedenog sustava može dovesti do retencije soli i razvoja arterijske hipertenzije. Kod zdravih normotenzivnih žena, porast renina i aldosterona limitiran je zahvaljujući negativnoj povratnoj sprezi RAAS-a. U žena koje postanu hipertenzivne zbog korištenja etinil estradiola, navedena kompenzatorna inhibicija koncentracije renina nije dostatna što dovodi do povišene aktivnosti renina u plazmi, uz posljedični porast angiotenzina II, aldosterona i arterijskog krvnog tlaka. Za razliku od toga, E4 ima ograničen učinak na angiotenzinogen, što bi objasnilo limitirani učinak na tjelesnu težinu i krvni tlak. Nadalje, zabilježen je preventivni učinak E4 na razvoj hipertenzije inducirane angiotenzinom II kod transgeničnih miševa. Navedeni učinak E4 ostvaruje zahvaljujući selektivnoj aktivaciji nuklearnog

ER $\alpha$ . (27)

Nadalje, pokazano je da E4 ima antagonistički učinak na estrogenske receptore u tkivima karcinoma dojke u prisustvu E2, odnosno da smanjuje proliferaciju staničnih linija karcinoma dojke. (18,28,29)

Navedeno može ukazivati na buduću primjenu E4 kao selektivnog modulatora estrogenskih receptora (SERM) koji ima manje neželjenih učinaka na valove vrućine, mučninu, hipertenziju, tromboemboliju i hiperplaziju endometrija u odnosu na tamoxifen. (30,31)

Pokazano je da E4 djeluje kao antagoist estrogena na modelu DMBA štakorskog karcinoma dojke, gdje prevenira nastanak novih karcinoma dojke i stimulira regresiju preegzistentnih karcinoma dojke. (31)

U jednoj je studiji pokazano da koristeći 3 komplementarna *in vivo* adenokarcinoma dojke (transgenični MMTV-PyMT miševi, stanična linija MCF7 humanog adenokarcinoma i hormon ovisni humani ksenografti PDX) E4 u kombinaciji sa progesteronom (P4) ili DRSP u dozama koje se koristi u kombiniranoj hormonskoj kontracepciji ili hormonskom nadomjesnom liječenju, ne dovodi do promocije razvoja karcinoma dojke niti diseminacije metastaza. Navedene spoznaje mogu ukazivati da kombinacija E4 s progestagenima može imati bolji omjer koristi i rizika glede utjecaja na dojku u usporedbi s postojećim hormonskim kontraceptivima kao i preparatima za hormonsko nadomjesno liječenje na tržištu. (32)

Estetrol ima značajno niži učinak na koagulaciju i hemostazu nego etinil estradiol ili estradiol i stoga bi mogao imati minimalni učinak na incidenciju tromboembolijskih događaja. (33)

Kemijski sintetizirani E4 identičan je prirodnom hormonu i proučavan je u kontracepciji, menopauzi, osteoporozi i raku dojke. (26)



## 5. OPĆENITO O ORALNOJ KONTRACENCIJI

### 5.1. Razvoj estrogenske sastavnice kombinirane hormonske kontracepcije

Većina oralnih steroidnih kontraceptiva sastoji se od estrogena i progestina. Progestinska sastavnica preko utjecaja na hormon koji otpušta gonadotropine (GnRH) smanjuje lučenje luteinizirajućeg hormona (LH) i time inhibira ovulaciju. Progestini ostvaruju i periferni kontracepcijski učinak zgušnjavanjem cervikalne sluzi sprječavajući ulazak spermija u šupljinu maternice i jajovode. Iako estrogenska sastavnica preko utjecaja na GnRH i smanjivanja lučenja FSH, čime se inhibira razvoj folikula, doprinosi kontracepcijskoj učinkovitosti, njena je primarna uloga u hormonskoj kontracepciji stabilizacija endometrija čime se osiguravaju redovita i predvidiva mjesečna krvarenja iz maternice. (34)

Prva oralna steroidna kontracepcijska pilula, pojavljuje se na tržištu Sjedinjenih Američkih država 1961. godine pod nazivom Enovid®. Sastojala se od 9,85 mg progestina noretinodrela i 150 µg etinilestradiol-3-metil etera - mestranola. Od 1960. godine sastav oralnih kontraceptivnih pilula značajnije se mijenja uz dramatično smanjenje doze mestranola, a 1970. mestranol se u potpunosti zamjenjuje etinil estradiolom. (35)

Etinil estradiol su prvi sintetizirali Hans Herloff Inhoffen i Water Hohlweg 1938. godine u istraživačkom laboratoriju farmaceutske kuće Schering, Njemačka, a temeljem istraživanja grupe Lavoslava Ružičke. Etinil estradiol je razvijen u nastojanju da se stvori estrogen s većom oralnom biodostupnošću. Ova svojstva su postignuta supstitucijom etinilne skupine na ugljiku 17 estradiola. Iako su klinička ispitivanja sa

etinil estradiolom započela još 1938. godine, rezultati su bili poznati izvan njemačkog govornog područja tek dosta godina nakon II. svjetskog rata. Rezultati tadašnjih istraživanja su ukazivali da primjena etinil estradiola dovodi do pojave mučnina u 20-30% žena, što se povezalo sa primjenom visoke doze. U Europi, tada zaokupljenoj ratom, malo je istraživača nastavilo istraživanje steroida. Ipak, svega 3 godine nakon registracije Enovida<sup>®</sup>, prvog hormonskog kontraceptiva u svijetu, Schering 1961. registrira prvu europsku kontracepcijsku pilulu Anovlar<sup>®</sup> koja je sadržavala etinil estradiol u dozi od 50 µg i 4 mg noretindrola. Navedena doza estrogena je bila tri puta manja od doze sadržane u američkom kontraceptivu Enovid<sup>®</sup> i bliža je dozi koja se koristi u suvremenim kontraceptivima (36).

Dokazi koji upućuju da je korištenje povezano s većim rizikom nastanka venske tromboembolije (VTE) pojavili su se vrlo brzo nakon njihovog stavljanja na tržište. Prvi slučaj VTE prijavljen je 1961. godine kod 40-godišnje žene koja je koristila Enovid<sup>®</sup> za liječenje endometrioze. (37) Kasnije je objavljeno da je pojava VTE viša kod primjene oralnih kombiniranih kontraceptiva koji sadrže više od 50 µg bilo mestranola ili etinil estradiola u usporedbi s pripravcima koji sadrže nižu dozu. (38) Doziranje estrogenske sastavnice potom je smanjeno na 75 µg, a zatim na 30 i 20 µg. Rizik od VTE pri primjeni oralne terapije koja sadrži više od 50 µg etinil estradiola se procjenjuje na 10/10 000 žena godišnje, a samo 4,2/10 000 žena godišnje kod žena koje uzimaju oralnu terapiju s manje od 50 µg etinil estradiola. (39)

Smanjenje doze estrogena do 10 µg sa ciljem povećanja sigurnosti rezultiralo je neprihvatljivim promjenama u načinima mjesečnih krvarenja u usporedbi s višim dozama. S obzirom da je nekoliko studija pokazalo da primjena E2 dovodi do manje stimulacije sinteze jetrenih proteina u usporedbi sa etinil estradiolom, sedamdesetih godina prošlog stoljeća su istraživanja usmjerena prema uporabi E2 u sklopu

hormonske kontracepcije. (40–42)

Zbog niske oralne bioraspoloživosti, E2 se morao primjeniti u mikroniziranom ili esterificiranom obliku. Prvi kombinirani kontraceptivi koji sadrže mikronizirani E2 u dozi od 1 i 3 mg pojavili su se na tržištu '80-ih godina prošlog stoljeća. No, iako su pokazali izvrsnu kontracepcijsku učinkovitost i bolji sigurnosni profil, njihova temeljna loša strana je bila neprihvatljiva nepravilnost mjesečnog krvarenja. (43) Nepravilna krvarenja nastojala su se minimalizirati uvođenjem 4-fazne primjene estradiola čime se imitirao menstruacijski ciklus i kombinacijama sa progestinima različite jačine. Unatoč tome, korištenje kontraceptiva sa E2, zbog niske bioraspoloživosti od svega 5% na razini endometrija, rezultira sa slabijom kontrolom redovitosti mjesečnih krvarenja u odnosu na kontraceptive koji sadrže EE, zbog čega potonji još uvijek dominiraju na tržištu. Godine 2021. se na tržištu pojavljuje prva kombinirana hormonska kontracepcija sa estetrolom.

## **5.2. Razvoj progestinske sastavnice kombinirane hormonske kontracepcije**

Širok izbor oralnih steroidnih kontraceptiva koji su trenutno dostupni uglavnom su rezultat sinteze novijih progestina. Progestini u oralnim kontraceptivnim tabletama koje su korištene 1960-ih i '70-ih bili su uglavnom noretindron i levonorgestrel. Navedeni su progestini zamijenjeni manje androgenim progestinima, uključujući desogestrel, gestoden, norgestimat i anti-androgeni progestin - ciproteron acetat. Nadalje, sintetiziraju se novi progestini poput derivata spironolaktona - drospirenon i derivata 19-norprogesterona - nomogestrol acetat. Kombinirani oralni steroidni kontraceptivi opisani su u terminima "generacija". Kontraceptivi prve generacije

sadrže 50 µg ili više etinilestradiola. Druga generacija kontraceptiva sadržava levonorgestrel u kombinaciji sa manje od 50 µg etinilestradiola. Novije formulacije nazivaju se kontraceptivima treće i četvrte generacije. Formulacije treće generacije su one koji sadrže manje androgene progestine - desogestrel, gestoden ili norgestimat. Oralni kontraceptivi četvrte generacije sadrže progestine drospirenon i dienogest koji imaju anti-androgena svojstva. (44)

Klasifikacija progestina je važna kada se raspravlja o kliničkom učinku ovih različitih formulacija. Možda najrelevantnija komponenta djelovanja određenih progestina odnosi se na njihovu androgenost. Sinteza manje androgenih progestina je trend u razvoju kontraceptivnih steroida. Slabiji androgeni učinak može imati povoljan utjecaj na akne i profil lipida. S druge strane, slabiji androgeni učinak moguće ne inhibira adekvatno prokoagulantni učinak etinilestradiola poput starijih, androgenih progestina. (45)

## **6. NOVA KOMBINIRANA ORALNA HORMONSKA KONTRACENCIJA KOJA SADRŽI E4**

### **6.1. Učinak na inhibiciju ovulacije i kontrolu ciklusa**

Studija faze 2 za određivanje doze procijenila je učinkovitost različitih doza E4 u kombinaciji sa levonorgestrelom ili drospirenonom u supresiji hipotalamo-hipofizne osovine i ovulacije u zdravih žena reproduktivne dobi. (46)

Kombinacija E4/DRSP je imala manji učinak na LH i FSH u usporedbi s kontracepcijom koja sadrži EE. Ovo opažanje je potvrđeno u studiji o funkciji jajnika, koja je pokazala da E4/DRSP (E4 15 mg/DRSP 3 mg), unatoč nižoj supresiji

LH i FSH, rezultira adekvatnom inhibicijom ovulacije i supresijom funkcije jajnika. (26) Pokazalo se da E4 u kombinaciji sa DRSP ili LNG adekvatno suprimira aktivnost jajnika i inhibira ovulaciju, posebice dan u dozi koja iznosi više od 10 mg/dan.

U skladu sa recentnim fiziološkim studijama koje su pokazale ključnu ulogu membranskog ER $\alpha$  u funkcioniranju jajnika, a time i njegovu ulogu u plodnosti, pokazano je kako transgenični miševi kojima nedostaje membranski ER $\alpha$  ne ovuliraju, čime se ističe neophodna uloga ovog receptora u procesu ovulacije. S obzirom da E4 selektivno aktivira nuklearni ER $\alpha$ , a antagonizira membranski ER $\alpha$ , upravo bi ova selektivna blokada membranskog ER $\alpha$  mogla doprinjeti inhibiciji ovulacije. Što se tiče ponovne pojave ovulacije nakon prestanka uzimanja terapije, ona se u skupini žena koje su uzimale E4/DRSP javila otprilike 17 dana nakon posljednje uzete terapije, a u skupini onih koje su uzimale E4/LNG i EE/DRSP 21 dan nakon posljednje uzete terapije. Objašnjenje za ovu razliku trenutno nije poznato. Međutim, za sve žene koje su uzimale terapiju, vremenski period do pojave prve ovulacije je usporediv sa trajanjem normalne folikularne faze, potvrđujući adekvatnu supresiju jajnika tijekom uzimanja terapije.

Debljina endometrija je u ciklusima tijekom uzimanja terapije bila reducirana, u usporedbi sa debljinom endometrija u ciklusima prije i nakon uzimanja terapije. Rezultati su usporedivi u svim skupinama žena koje su uzimale terapiju, uključujući skupinu koja je uzimala EE/DRSP. Čini se da E4 u kombinaciji sa progestinom ima sličan učinak na rast endometrija kao EE/DRSP.

Također, u usporedbi sa EE ili E2, E4 ne inhibira citokrom P450 enzime te stoga ne bi trebao interferirati sa metabolizmom ostalih lijekova.

E4 se izlučuje urinom u obliku inaktivnih sulfo- i glukurono-konjugata koji ne interferiraju sa bilijarnim sustavom te stoga ne bi povisivali incidenciju bolesti

povezanih sa žučnim mjehurom, kao što je to slučaj sa klasičnim kombiniranim oralnim kontraceptivima. (46)

## **6.2. Učinak na enzime i serumske proteine**

Utjecaj E4 na SHBG se smatra vrlo važnim s obzirom da promjene u razini SHBG pri korištenju kombinirane oralne kontracepcije mogu biti interpretirane kao mjera ukupne estrogenosti i korištene kao prediktor rizika od venske tromboembolije. Iako postoji debata glede upotrebe SHBG kao markera tromboze, Europska agencija za lijekove preporuča mjerenje SHBG u svrhu procjene trombotske sigurnosti kombinirane oralne kontracepcije.

Što se tiče učinka na ostale proteinske nosače, povećanje razine angiotenzinogena, CBG-a i TBG-a bilo je značajno niže kod korištenja E4/DRSP u usporedbi s EE/LNG i EE/DRSP.

Prethodno je pokazano kako korištenje EE/DRSP dovodi do porasta lipidne peroksidacije. Povišene razine oksidiranog LDL-a i lipidnih peroksida su bile u korelaciji sa porastom plazmatskih razina bakra induciranih etinilestradiolom.

Porast plazmatskih koncentracija bakra koji je povezan s upotrebom kombinirane oralne kontracepcije dobro je poznat i pripisan je estrogenskoj indukciji sinteze ceruoplazmina, proteina akutne faze i glavnog nosača bakra, u jetri. Stoga bi se moglo pretpostaviti da bi nizak učinak E4 na razine ceruoplazmina mogao rezultirati nižim učinkom kombinirane oralne kontracepcije koja sadrži E4 na oksidativni stres. (24)

### 6.3. Učinak na metabolizam lipida

Estrogeni imaju pozitivan učinak na metabolizam lipida, povećavajući HDL-C i smanjujući LDL-C. Progestini se pak, ovisno o svojoj vrsti i androgenosti, mogu suprostaviti ovim pozitivnim estrogenim učincima. Kombinirana oralna kontracepcija s androgenijim progestinom kao što je LNG, pokazuje smanjenje HDL-C i povećanje LDL-C, dok kontracepcija koja sadrži noviji progestin poput DRSP-a ima povoljniji učinak na lipide. (26)

Kombinacije E4/DRSP i E4/LNG pokazuju minorni učinak na razine lipida (HDL i LDL kolesterol). U usporedbi sa EE/DRSP, u skupini onih žena koje su koristile E4/DRSP zabilježen je nesignifikantni porast razina HDL i LDL kolesterola te posljedično porast ukupnog kolesterola.

Svi režimi E4/LNG su doveli do sniženja plazmatskih razina triglicerida za otprilike 30% (statistički značajno različito u odnosu na EE/DRSP), za razliku od kombinacija E4/DRSP koje su nesignifikantno povisile razine triglicerida za 10%. Usporedbe radi, učinak EE/DRSP na porast razine triglicerida je bio više izražen (otprilike 60%). Povišene razine triglicerida smatraju se markerom za kardiometaboličke bolesti te je predloženo kako dugoročna upotreba kombinirane oralne kontracepcije može povećati rizik za akutni metabolički sindrom. Izostanak povišenja razine triglicerida kod žena koje su bile izložene djelovanju kombinirane oralne kontracepcije koja sadrži E4 se smatra povoljnim. (24)

Također, činjenica da estetrol ima znatno manji učinak na jetru i parametre hemostaze u usporedbi s EE i E2, bez obzira na to sa kojim je progestinom kombiniran, sugerira manji rizik od venske tromboembolije u

usporedbi s drugim kombiniranim oralnim kontraceptivima. (5)

#### **6.4. Učinak na hemostazu**

Podaci vezani za hemostazu koji su prikupljeni iz faze 2 kliničkih istraživanja pokazuju da učinak kombiniranih oralnih hormonskih kontraceptiva na hemostatske parametre ovisi o ukupnoj estrogenosti kombiniranih oralnih hormonskih kontraceptiva (47). Progestini mogu modelirati taj ukupni učinak, pri čemu progestini sa neutralnijim učinkom na jetru omogućavaju ispoljavanje punog učinka estrogena. Niža estrogenost pojedine kombinacije kombinirane oralne hormonske kontracepcije jednaka je nižem trombogenom potencijalu te posljedično i nižem riziku za VTE.

Obzirom da je E4 slabije potentni estrogen, kombinacija E4 i DRSP rezultira estrogenošću koja ima jednak ili čak niži hemostatski učinak od kombinacije EE/LNG. Također, E4 je imao limitirani učinak na nAPCsr, parametar koji se povezuje sa relativnim rizikom od razvoja tromboze(48). E4 imao je manji učinak na nAPCsr i ostale relevantne hemostatske faktore u odnosu na kontraceptive koji sadrže EE, uključujući i kombinaciju koja se smatra najsigurnijom od strane Europske agencije za lijekove, a to je EE/LNG. (47,49)

#### **6.5. Učinak na tjelesnu težinu i zadovoljstvo korisnica**

Nadalje, porast tjelesne težine je važan i čest razlog prekida uzimanja kombinirane oralne hormonske kontracepcije, unatoč kontinuiranoj potrebi za kontrolom fertiliteta. Stoga je pojava većeg udjela žena kod kojih je došlo do pada tjelesne težine, a iz skupine onih koje su uzimale E4/DRSP, značajna prednost koja bi mogla igrati važnu ulogu u suradljivosti glede uzimanje terapije i kontinuitetu uzimanja



terapije. Objašnjenje za gubitak kilograma prilikom uzimanja kombinirane oralne hormonske kontracepcije koja sadrži DRSP moguće leži u smanjenju retencije vode koje je povezano sa antimineralokortikoidnom aktivnošću DRSP.

Također, proučavanjem parametara kao što su zadovoljstvo korisnica, ishodi vezani uz zdravlje te prihvaćanje ispitivanog lijeka, pokazano je da kombinacija E4/DRSP ima pogodniji ishod glede zadovoljstva korisnica nego kombinacija E4/LNG. (50)

Na temelju svega navedenog, čini se kako je E4 prikladan estrogen za zamjenu EE u kombiniranim oralnim hormonskim kontraceptivima. To je potvrđeno u mladim zdravim žena, kod kojih je zabilježena supresija funkcije jajnika i inhibicija ovulacije. Također, na temelju rezultata istraživanja, čini se kako kombinirana oralna hormonska kontracepcija koja sadrži E4 manje interferira sa metabolizmom lipida i parametrima koagulacije, pritom održavajući adekvatnu zaštitu kostiju. (24)

## **7. OPĆENITO O HORMONSKOM NADOMJESNOM LIJEČENJU**

Menopauzalna tranzicija i postmenopauza mogu biti praćeni sa skupinom simptoma (vazomotorni, genitourinarni itd.) koji negativno utječu na fizičko, seksualno i psihosocijalno osjećanje žene te posljedično na ukupnu kvalitetu života mnogih žena. (51)

## **7.1. Učinak hormonskog nadomjesnog liječenja na simptome povezane s menopauzalnom tranzicijom i postmenopauzom**

Vazomotorni su simptomi (VMS), pogotovo valovi vrućine i noćna znojenja, prijavljivani kao najneugodniji od svih simptoma menopauzalne tranzicije i postmenopauze. Javljaju se u kasnoj menopauzalnoj tranziciji i ranoj postmenopauzi te su značajan razlog zbog kojeg žene traže medicinsku pomoć glede menopauzalnih tegoba. (52) Procjenjuje se da otprilike 75% žena starijih od 50 godina pati od valova vrućine. Većina žena u menopauzi doživljava valove vrućine u trajanju od oko 4 do 5 godina, s tim da kod žena čiji su valovi vrućine započeli pri početku menopauzalne tranzicije oni mogu trajati i duže od 12 godina. (51)

Menopauzalne tegobe kao što su valovi vrućine, seksualni poremećaji, poremećaji spavanja i gubitak mineralne gustoće kosti su obično olakšane primjenom estrogena. Međutim, korištenje hormonskog nadomjesnog liječenja povezuje se s određenim nuspojavama. Zbog svojeg snažnog učinka na jetru i stimulacije prokoagulantnih čimbenika, primjena estrogena dovodi do porasta incidencije tromboembolijskih događaja. Nadalje, primjena određenih vrsta estrogena u kombinaciji sa određenim vrstama progestina povećava rizik nastanka karcinoma dojke. Ova zapažanja ističu potrebu za razvojem novog hormonskog nadomjesnog liječenja sa sigurnijim sastavnicama koje zadržavaju povoljne učinke estrogena na kosti, urogenitalni i središnji živčani sustav, a pokazuju minimalni učinak na jetru i tkivo dojke. (33)

Tijekom posljednjih godina nekolicina smjernica je ažurirana s ciljem predstavljanja trenutnog pristupa rješavanju menopauzalnih tegoba. Postoji općenita suglasnost među smjericama kako hormonsko nadomjesno liječenje ima povoljan omjer koristi i rizika u žena koje započnu terapiju između 50. i 59. godine života ili unutar 10 godina od menopauze. U ovoj je populaciji hormonsko nadomjesno liječenje vrlo učinkovito u

olakšavanju vazomotornih i urogenitalnih simptoma, kao i u prevenciji gubitka koštane mase i fraktura. (53) Olakšavanje simptoma pruža i dodatne prednosti kao što su poboljšanje seksualne funkcije i ukupne kvalitete života.

Sustavnim pregledom literature glede pitanja početka primjene hormonskog nadomjesnog liječenja uočeno je kako početak terapije u dobi <60 godina može smanjiti stopu smrtnosti bilo kojeg uzroka, kardiovaskularne smrtnosti i kardiovaskularnih događaja. Terapijski pristup upravljanju prijelazom kroz menopauzalno razdoblje ima dvojni, ali kontinuirani cilj: zbrinuti inicijalne simptome te smanjiti dugoročne neželjene ishode postmenopauze.

Hormonsko nadomjesno liječenje obuhvaća nekoliko različitih skupina lijekova uključujući estrogene, progestogene, kombinacije estrogena i progestogena, tibolon, raloksifen i kombinacija konjugiranog estrogena i bazedoksifena, selektivnog modulatora estrogenskog receptora. Terapijske opcije su dostupne u širokom opsegu doza te su formulirane za oralnu, transdermalnu i vaginalnu primjenu. (54)

## **7.2. Nuspojave hormonskog nadomjesnog liječenja**

Svaka terapijska opcija ima svoj vlastiti profil koristi i rizika te je upravo poznavanje karakteristika dostupnih terapijskih opcija ključno u optimiziranju liječenja za svaku pacijenticu ponaosob.

Potencijalna povezanost između uporabe hormonskog nadomjesnog liječenja i raka dojke je kontroverzna. Stvarni je rizik nizak te se procjenjuje na <1 slučaj na 1000 žena-godina među korisnicama hormonskog nadomjesnog liječenja, što je niži rizik od rizika povezanog s endogenim čimbenicima kao što je povećana gustoća dojke ili čimbenici životnog stila poput pretilosti, fizičke neaktivnosti i konzumacije alkohola.

Trenutno se smatra kako je malo vjerojatno da uporaba hormonskog nadomjesnog liječenja sama po sebi uzrokuje rak dojke, ali moguće da ima promotorski učinak na postojeće tumore. Drugim riječima, u malog broja žena koje su primale hormonsko nadomjesno liječenje, hormonska je terapija povećala vjerojatnost za dijagnosticiranjem tumora dojke za koji se pretpostavlja da je postojao već prije početka terapije. Ono što je zanimljivo jest da se pokazalo kako je stopa preživljenja pacijentica sa rakom dojke bila viša među ženama koje su koristile hormonsko nadomjesno liječenje u usporedbi sa onima koje nikad nisu bile korisnice iste. (55,56)

Glavni rizik povezan sa primjenom hormonskog nadomjesnog liječenja je venska tromboembolija ( duboka venska tromboza i plućna embolija), iako je također stvarna incidencija niska te prema procjeni iznosi 1 do 2 slučaja na 1000 žena-godina među korisnicama hormonskog nadomjesnog liječenja. Venska tromboembolija je rijedak događaj u žena koje nemaju druge endogene i egzogene rizike i mlađe su od 60 godina. Incidencija se povećava s porastom dobi s obzirom da je dob glavni rizični čimbenik za vensku tromboemboliju. (57)

Nesretan je splet događaja kojima su dobrobiti hormonskog nadomjesno liječenja glede zdravlja žena u menopauzi bili zasjenjeni rezultatima WHI studije ekstrapoliranim od žena koje po kriterijima nisu bile prikladni kandidati za primanje hormonske terapije.(58)

Vrijeme kontroverzije je prošlo te je hormonsko nadomjesno liječenje trenutno prihvaćeno kao učinkovita i sigurna opcija za zdrave simptomatske žene mlađe od 60 godina ili one kod kojih je period od nastupa menopauze unutar 10 godina, a koje nemaju kontraindikacije ili posebne mjere opreza za njegovu primjenu. (54)

## **8. HORMONSKO NADOMJESNO LIJEČENJE KOJE SADRŽI E4**

Bojazan od povećanog rizika razvoja raka dojke zbog korištenja hormonskog nadomjesnog liječenja ili čak kombinirane oralne hormonske kontracepcije dovela je do povećanja broja žena koje izbjegavaju ove terapijske opcije. S obzirom na jasne dobrobiti hormonskog nadomjesnog liječenja i kombinirane oralne hormonske kontracepcije za zdravlje žena i njihovu dobrobit, postoji medicinska potreba za razvojem novih generacija estrogensko-progestagenskih preparata koji pokazuju bolji sigurnosni profil, posebice u vidu rizika razvoja raka dojke. Estetrol bi mogao ispuniti tu potrebu. (32)

### **8.1. Učinak na tkivo dojke i endometrij**

Uzvevši u obzir da je terapija estrogenom najdosljednije učinkovita terapija za menopauzalne vazomotorne simptome, a prateći sigurnosna pitanja o kojima se raspravljalo te zbog postojanja kontinuiranih zahtjeva samih korisnica, izazov je kliničara bio odrediti najnižu učinkovitu dozu novog i sigurnijeg estrogena za ublažavanje menopauzalnih simptoma. (51)

Glavne kliničke prednosti estetrola u hormonskom nadomjesnom liječenju su, u usporedbi sa trenutno korištenim estrogenima, niža incidencija nuspojava i niži rizik nastanka duboke venske tromboze i bolesti žučnjaka. Također, antagonistički estrogenski učinak E4 na dojku može rezultirati boljim sigurnosnim profilom glede rizika nastanka raka dojke. S obzirom da se čini kako je primjena oralnih sintetičkih progestina značajniji čimbenik rizika za nastanak karcinoma dojke od estrogena, cilj je razviti hormonsko nadomjesno liječenje koje ne zahtijeva dodatak progestina. (59) To se može postići primjenom niže doze E4

za indikaciju vulvovaginalne atrofije koja ne stimulira endometrij te time ne zahtijeva primjenu progestina. Za liječenje vazomotornih tegoba, potrebno je primjeniti više doze E4 koje potencijalno induciraju proliferaciju endometrija, te je u takvom slučaju nužna primjena progestagena. Radi zaštite endometrija, a istovremeno izbjegavajući uzimanje oralnih progestina koji sa sobom nose svoj povećani rizik od raka dojke, preferira se korištenje intrauterinog uložka koji otpušta levonorgestrel. (5)

Studije su pokazale kako je E4, dan u terapijskoj dozi za indikaciju menopauze ili kontracepcije, neutralnog učinka na rast tumora dojke.

Istraživanja su naglasila činjenicu da su stanice ER+ tumora dojke manje osjetljive na djelovanje E4 nego epitelne stanice maternice, s obzirom da je terapijska doza E4 bila dovoljna da poveća proliferaciju epitelnih stanica maternice. Neutralan učinak terapijske doze E4 na rast ER+ tumora dojke povezan je sa nedostatkom signalne aktivacije ER-a u stanicama tumora dojke. (2)

Također, pokazalo se da indukcija dvaju markera signalne aktivacije ER-a ( PR i S118-ER fosforilacija) zahtijeva supratherapeutsku dozu E4 da bi se postigao isti učinak onom koji izaziva već terapeutska doza E2 u stanicama tumora dojke, in vitro i in vivo. (60)

Nadalje, estetrol pokazuje antitumorsku aktivnost u prisutnosti E2 na način da reducira jaku proliferativnu aktivnost induciranu s E2. Dvojne slabe estrogenske i antiestrogenske karakteristike E4 rezultat su aktivacije drugačijeg signalnog puta, a nisu rezultat kapaciteta estetrola da antagonizira jezgenu aktivnost koju inducira E2. U nedavno provedenoj studiji, farmakologija E4 proučavana je u 8 biologijski različitih staničnih linija ljudskog tumora dojke. U spomenutom istraživanju korišteni su puni agonisti E1, E2 i E3, parcijalni agonist trifeniletilen bisfenol te antagonisti tamoxifen i

endoxifen. E4 je klasificiran kao slabije potentni puni agonist estrogena koji uzrokuje regresiju tumora u tumorskim stanicama koje su dugoročno deprivirane od estrogena. Spomenuti učinak E4 ostvaruje aktivacijom brzog odgovora nesmotanih proteina (UPR) te apoptozom. Interpretirajući dobivene rezultate, autori provedenog istraživanja zaključili su da je korištenje E4 za liječenje uznapredovalog tumora dojke potencijalno superiornije u odnosu na korištenje parcijalnih agonista, s obzirom da parcijalni agonisti zakašljelo induciraju odgovor nesmotanih proteina i apoptozu što posljedično nosi veći rizik od evolucije klonova tumorskih stanica i razvoja rezistencije. (61)

U žena sa nedavno dijagnosticiranim tumorom dojke, kratkotrajno korištenje do 20mg E4 induciralo je apoptozu tumorskih stanica, bez proliferacije. (29) E4 korišten kod pacijenata u terminalnoj fazi endokrino-rezistentnog tumora dojke u dozama 20-60 mg bio je siguran i dobro podnošljiv tijekom 12 tjedana liječenja. Navedene doze su u tom periodu imale anti-tumorski učinak kod 5 od 9 pacijenata sa progresivnim, prethodno žestoko tretiranim, anti-estrogen rezistentnim i uznapredovalim tumorima dojke. (62)

Sumarno, rezultati istraživanja pokazuju kako se E4 ponaša kao slabi estrogen koji će stimulirati rast tumora dojke ovisnog o hormonima jedino u koncentracijama koje premašuju koncentracije korištene za liječenje menopauzalnih tegoba. Također, jedno od ključnih zapažanja jest i činjenica da dodatak P4 ili DRSP estetrolu čini terapijsku kombinaciju koja posljedično ostaje neutralna na sva tri testirana komplementarna in vivo modela ER+ raka dojke (transgenični MMTV-PyMT miševi, stanična linija MCF7 humanog adenokarcinoma i hormon ovisni humani ksenografti PDX). Nadalje, uočeno je da E4 ostaje aktivan na endometriju, stimulirajući proliferaciju epitelnih stanica endometrija, čak i pod kroničnom

terapijskom dozom koja je neutralna glede rasta tumora dojke i diseminacije plućnih metastaza. Ovo je zapažanje značajno u kliničkoj praksi budući da implicira korištenje progestogena u kombinaciji sa E4 u svrhu zaštite endometrija nehisterektomiranih žena od razvoja hiperplazije i raka. Iz svega navedenog, ističe se kako E4 ima ograničeni učinak na tumor dojke i u može pružiti sigurni terapijski prozor za liječenje menopauzalnih simptoma. (32)

## **8.2. Učinak na koagulaciju i metabolizam lipida**

Nakon menopauze, hemostatska ravnoteža se pomiče prema latentnom hiperkoagulabilnom stanju, te (oralna) estrogenska terapija dodatno povećava rizik nastanka venske tromboembolije. (63)

Sustav hemostaze blisko je povezan s funkcijom jetre s obzirom da parenhimalne stanice jetre sintetiziraju većinu faktora zgrušavanja i fibrinolize. Zanimljivo je da E4 pokreće specifičan transkripcijski program u jetri koji se razlikuje od onih induciranih od strane E2 i tamoxifena. Ovime se dodatno naglašava činjenica da svaki ER $\alpha$  ligand uzrokuje visokospecifičnu regulaciju gena u jetri, što je u skladu sa različitim djelovanjem E4, E2 i tamoxifena na čimbenike koagulacije u ljudi (82,84,85). Iako su potrebne dodatne molekularne studije kojima bi se preciznije razjasnile kompleksne interakcije između membranskih i subpopulacije jezgrenih ER $\alpha$ , dosadašnja zapažanja sugeriraju da bi odsustvo aktivnosti ER $\alpha$  MISS moglo doprinjeti limitiranom učinku E4 na jetru, čime se značajno razlikuje od E2 i EE. (24,47,64)

Markeri hemostaze ( fibrinogen, protrombin, protrombinski fragment 1+2, D-dimer, aktivnost faktora VIII, protein C, protein S, antitrombin, inhibitor puta tkivnog faktora) nisu pokazali značajne promjene od osnovice u usporedbi sa placeboom kod



postmenopausalnih žena koje su koristile E4. (48)

Povećana APC rezistencija jedna je od najvažnijih sekundarnih krajnjih točaka u identifikaciji povećanog rizika od venske tromboembolije u postmenopausalnih žena koje primaju hormonsko nadomjesno liječenje. Stoga se činjenica da nakon primjene E4 nisu uočene promjene što se tiče APC rezistencije može smatrati povoljnom karakteristikom primjene ove terapije.

Sve u svemu, učinak E4 na hemostazu se, na temelju ovog ograničenog seta rizičnih čimbenika, čini malim, međutim potrebna je potpuna i specifična studija orijentirana na hemostazu koja bi procijenila potencijalne dugoročne hemostatske učinke korištenja E4 kod postmenopausalnih žena.

Poznato je da su visoke razine HDL-C (antiaterogeni lipoprotein), niske razine LDL-C ( proaterogeni lipoprotein) i niske razine triglicerida povezane sa nižim rizikom nastanka kardiovaskularnih događaja.

Nakon menopauze, razine estrogena u plazmi se smanjuju što rezultira padom razine HDL-C i porastom razine ukupnog kolesterola, LDL-C, triglicerida i VLDL-C što posljedično povećava rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti. Upravo iz tog razloga postoji potreba za ispitivanjima kojima bi se utvrdilo mogu li ove potencijalno aterogene promjene biti zaustavljene u postmenopausalnih žena koje koriste estetrol.

Poznata je činjenica da se nakon oralne primjene estrogena u postmenopausalnih žena serumska razina LDL-C smanjuje, dok se razine HDL-C i triglicerida povećavaju. Istraživanja su pokazala sličan povoljni estrogenski učinak na LDL-C i HDL-C i pri primjeni E4. Međutim, nepovoljno povećanje razine triglicerida koje je tipično za primjenu estrogena, bilo je značajno manje kod primjene E4; nije bilo povećanja pri primjeni 10 mg E4, a kod primjene 40 mg E4 uočeno je povećanje od samo 7%. Zaključno, smanjene vrijednosti LDL-C, praćene porastom HDL-C i

nikakvim ili minimalnim promjenama u razinama triglicerida, mogle bi biti povoljne značajke primjene E4 glede utjecaja na smanjenje rizika nastanka kardiovaskularnih bolesti. (63)

### **8.3. Učinak na koštano tkivo**

Gubitak koštane mase nastaje kao rezultat hipoestrogenizma, uključujući hipoestrogenizam koji prati menopauzu, i reflektira povećanu koštanu pregradnju sa povećanom resorpcijom kosti i smanjenom koštanom formacijom. Upotreba estrogena nakon menopauze ublažava gubitak koštane mase na način da sinkronizira resorpciju i formaciju kosti.

U svrhu proučavanja učinka novog lijeka na koštano tkivo, korištena je procjena CTX-1 kao markera resorpcije kosti i osteokalcina kao markera formiranja kosti.

Općenito je preporuka da se korištenje biomarkera u svrhu procjene učinka lijeka na kosti odvija u studijama u trajanju od 12 tjedana. Istraživanje koje je generiralo podatke o promjenama koštanih markera nakon samo 4 tjedna primjene terapije je, bez obzira na kratki vremenski period primjene, zabilježilo o dozi-ovisne učinke E4 na koštane parametre koji upućuju da bi E4 mogao pružati sličnu zaštitu od postmenopauzalnog gubitka koštane mase kao ostali estrogene. (23,63)

## 9. ZAKLJUČAK

Estetrol je fetalni estrogen koji je strukturno vrlo sličan estronu, estradiolu i estriolu, ali uz brojne poželjne karakteristike koje ga čine novitetom u oralnoj hormonskoj kontracepciji i hormonskom nadomjesnom liječenju. U usporedbi sa estradiolom, E4 ima znatno veću bioraspoloživost pri oralnoj primjeni, a eliminacija mu je značajno sporija. Dodatno, E4 se ne metabolizira u daljnje estrogenske metabolite poput E2, čime se posljedično brzo postižu terapijske koncentracije nakon oralne primjene.

Upotreba estrogena (bilo sintetskih ili prirodnih) povezana je sa određenim zdravstvenim rizicima, osobito vezanima uz jetru i kardiovaskularne događaje. Spomenuti su učinci ovisni o načinu primjene hormona i o tipu primjenjenog estrogena. Jedinstvene farmakološke karakteristike i molekularni mehanizmi djelovanja estetrola ukazuju kako bi ovaj steroidni hormon omogućio bolji omjer dobrobiti i rizika u usporedbi sa ostalim estrogenima na tržištu. Podaci iz dosadašnjih prekliničkih i kliničkih istraživanja potvrđuju sigurnost estetrola, koji djelovanjem preko nuklearnih ER $\alpha$  receptora ostvaruje kardiovaskularne dobrobiti karakteristične za estrogene. Istovremeno, uporaba E4 predstavlja manji rizik nastanka tromboembolijskih incidenata zahvaljujući njegovom neutralnom učinku na sintezu hemostatskih proteina.

Rezultati do sad provedenih prekliničkih i kliničkih istraživanja indiciraju slabo estrogensko djelovanje E4 na tkivo dojke, odnosno praktički neutralno djelovanje u dozama koje se koriste u sklopu oralne hormonske kontracepcije i hormonskog nadomjesnog liječenja.

## 10. LITERATURA

1. Daniels K, Ph D, Abma JC, Ph D. Current Contraceptive Status Among Women Aged 15 – 49 : Natl Cent Heal Stat Data Briefs. 2018;(327):2015–7.
2. Gallez A, Blacher S, Maquoi E, Konradowski E, Joiret M, Primac I, et al. Estetrol combined to progestogen for menopause or contraception indication is neutral on breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13(10).
3. Gérard C, Arnal J-F, Jost M, Douxfils J, Lenfant F, Fontaine C, et al. Profile of estetrol, a promising native estrogen for oral contraception and the relief of climacteric symptoms of menopause. *Expert Rev Clin Pharmacol [Internet]*. 2022;15(2):121–37. Available from: <https://doi.org/10.1080/17512433.2022.2054413>
4. Fruzzetti F, Fidecicchi T, Guevara MMM, Simoncini T. Estetrol: A new choice for contraception. *J Clin Med*. 2021;10(23).
5. Ahrendt H., K.J. Buhling. Reproduktionsmedizin und Endokrinologie. *J Reprod Med Endocrinol [Internet]*. 2006;1(3):194–201. Available from: <http://www.kup.at/kup/pdf/9658.pdf>
6. Visser M, Coelingh Bennink HJT. Clinical applications for estetrol. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2009;114(1–2):85–9.
7. Holinka CF, Gurpide E. In vivo effects of estetrol on the immature rat uterus. *Biol Reprod*. 1979;20(2):242–6.
8. Coelingh Bennink HJT, Holinka CF, Diczfalusy E. Estetrol review: Profile and potential clinical applications. *Climacteric*. 2008;11(SUPPL. 1):47–58.

9. Warmerdam EGJC, Visser M, Coelingh Bennink HJT, Groen M. A new route of synthesis of estetrol. *Climacteric*. 2008;11(SUPPL. 1):59–63.
10. WO2012164096 PROCESS FOR THE PRODUCTION OF ESTETROL INTERMEDIATES [Internet]. [cited 2022 May 30]. Available from: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2012164096>
11. Yager JD. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention - A review. *Steroids* [Internet]. 2015;99(Part A):56–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.006>
12. Bagot CN, Marsh MS, Whitehead M, Sherwood R, Roberts L, Patel RK, et al. The effect of estrone on thrombin generation may explain the different thrombotic risk between oral and transdermal hormone replacement therapy. *J Thromb Haemost*. 2010;8(8):1736–44.
13. Pugeat MM, Dunn JF, Nisula BC. Transport of Steroid Hormones : Interaction of 70 Drugs. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;53(1):69–75.
14. Visser M, Holinka CF, Coelingh Bennink HJT. First human exposure to exogenous single-dose oral estetrol in early postmenopausal women. *Climacteric*. 2008;11(SUPPL. 1):31–40.
15. Siiteri PK, Murai JT, Hammond GL, Nisker JA, Raymoure WJ, Kuhn RW. The serum transport of steroid hormones. Vol. 38, *Recent progress in hormone research*. 1982. 457–510 p.
16. Jirku H, Kadner S, Levitz M. Pattern of estetrol conjugation in the human. *Steroids*. 1972 Apr 1;19(4):519–34.

17. Abot A, Fontaine C, Buscato M, Solinhac R, Flouriot G, Fabre A, et al. The uterine and vascular actions of estetrol delineate a distinctive profile of estrogen receptor  $\alpha$  modulation, uncoupling nuclear and membrane activation. *EMBO Mol Med*. 2014;6(10):1328–46.
18. Gérard C, Blacher S, Communal L, Courtin A, Tskitishvili E, Mestdagt M, et al. Estetrol is a weak estrogen antagonizing Estradiol-dependent mammary gland proliferation. 2014;(October):1–33.
19. Benoit T, Valera MC, Fontaine C, Buscato M, Lenfant F, Raymond-Letron I, et al. Estetrol, a Fetal Selective Estrogen Receptor Modulator, Acts on the Vagina of Mice through Nuclear Estrogen Receptor  $\alpha$  Activation. *Am J Pathol* [Internet]. 2017;187(11):2499–507. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.07.013>
20. Guivarc E, Guihot A, Favre J, Vessi E, Grimaud L, Wakim J, et al. Predominant Role of Nuclear Versus Membrane Estrogen Receptor  $\alpha$  in Arterial Protection : Implications for Estrogen Receptor  $\alpha$  Modulation in Cardiovascular Prevention / Safety. 2002;
21. Valéra MC, Noirrit-Esclassan E, Dupuis M, Fontaine C, Lenfant F, Briaux A, et al. Effect of estetrol, a selective nuclear estrogen receptor modulator, in mouse models of arterial and venous thrombosis. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2018;477(April):132–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.06.010>
22. Hart-Unger S, Arao Y, Hamilton KJ, Lierz SL, Malarkey DE, Hewitt SC, et al. Hormone signaling and fatty liver in females: Analysis of estrogen receptor  $\alpha$  mutant mice. *Int J Obes* [Internet]. 2017;41(6):945–54. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2017.50>

23. Coelingh Bennink HJT, Heegaard AM, Visser M, Holinka CF, Christiansen C. Oral bioavailability and bone-sparing effects of estetrol in an osteoporosis model. *Climacteric*. 2008;11(SUPPL. 1):2–14.
24. Mawet M, Maillard C, Klipping C, Zimmerman Y, Foidart J, Bennink HJTC, et al. contraceptives Unique effects on hepatic function , lipid metabolism , bone and growth endocrine parameters of estetrol in combined oral contraceptives. 2015;5187.
25. Pluchino N, Santoro AN, Casarosa E, Giannini A, Genazzani A, Russo M, et al. Effect of estetrol administration on brain and serum allopregnanolone in intact and ovariectomized rats. *J Steroid Biochem Mol Biol [Internet]*. 2014;143:285–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.04.011>
26. Klipping C, Duijkers I, Mawet M, Maillard C, Bastidas A, Jost M, et al. Endocrine and metabolic effects of an oral contraceptive containing estetrol and drospirenone. *Contraception [Internet]*. 2021;103(4):213–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2021.01.001>
27. Guivarc'h E, Buscato M, Guihot AL, Favre J, Vessières E, Grimaud L, et al. Predominant Role of Nuclear Versus Membrane Estrogen Receptor  $\alpha$  in Arterial Protection: Implications for Estrogen Receptor  $\alpha$  Modulation in Cardiovascular Prevention/Safety. *J Am Heart Assoc [Internet]*. 2018 Jul 1 [cited 2022 Jun 4];7(13). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29959137/>
28. Giretti MS, Guevara MMM, Cecchi E, Mannella P, Palla G, Spina S, et al.

- Effects of estetrol on migration and invasion in T47-D breast cancer cells through the actin cytoskeleton. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5(MAY):1–9.
29. Singer CF, Bennink HJTC, Natter C, Steurer S, Rudas M, Moinfar F, et al. Antiestrogenic effects of the fetal estrogen estetrol in women with estrogen-receptor positive early breast cancer. *Carcinogenesis*. 2014;35(11):2447–51.
  30. Jozan S, Kreitmann B, Bayard F. Different effects of oestradiol, oestriol, oestetrol and of oestrone on human breast cancer cells (MCF-7) in long term tissue culture. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1981;98(1):73–80.
  31. Coelingh Bennink HJT, Singer C, Simoncini T, Genazzani AR, Holinka CF, Kubista E. Estetrol, a pregnancy-specific human steroid, prevents and suppresses mammary tumor growth in a rat model. *Climacteric*. 2008;11(SUPPL. 1):29.
  32. Gallez A, Blacher S, Maquoi E, Konradowski E, Joiret M, Primac I, et al. Estetrol combined to progestogen for menopause or contraception indication is neutral on breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2021 May 2;13(10).
  33. Gérard C, Mestdagt M, Tskitishvili E, Communal L, Gompel A, Silva E, et al. Combined estrogenic and anti-estrogenic properties of estetrol on breast cancer may provide a safe therapeutic window for the treatment of menopausal symptoms. *Oncotarget*. 2015;6(19):17621–36.
  34. Edelman AB, Cherala G, Stanczyk FZ. Metabolism and pharmacokinetics of contraceptive steroids in obese women : a review. *Contraception [Internet]*. 2010;82(4):314–23. Available from:



<http://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2010.04.016>

35. Liao PV, Dollin J. Half a century of the oral contraceptive pill: historical review and view to the future. *Can Fam Physician*. 2012;58(12):757–60.
36. Medicine R. Reproduktionsmedizin und Endokrinologie Pharmacology of Progestogens. 2011;8(1):157–77.
37. Jordan WM, Anand JK. PULMONARY EMBOLISM. *Lancet*. 1961 Nov 18;278(7212):1146–7.
38. Inmais WHW, Vessey MP, Westerholv B, Engelune A. Thromboembolic Disease and the Steroidal Content of Oral Contraceptives a Rennrt to the Committee on Safetv of Drues. *Br Med J*. 1970;2(5703):203–9.
39. Heinemann LAJ, Dinger JC. Range of published estimates of venous thromboembolism incidence in young women. *Contraception*. 2007;75(5):328–36.
40. Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R, Eggena P, Nakamura RM, Brenner PF, et al. Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;144(5):511–8.
41. Wiegatz I, Lee JH, Kutschera E, Winkler UH, Kuhl H. Effect of four oral contraceptives on hemostatic parameters. *Contraception*. 2004;70(2):97–106.
42. Lindberg UB, Crona N, Stigendal L, Teger-Nilsson AC, Silfverstolpe G. A comparison between effects of estradiol valerate and low dose ethinyl estradiol on haemostasis parameters. *Thromb Haemost* [Internet]. 1989 [cited 2022 May 30];61(1):65–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2526387/>

43. Fruzzetti F, Trémollières F, Bitzer J. An overview of the development of combined oral contraceptives containing estradiol: Focus on estradiol valerate/dienogest. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(5):400–8.
44. Stanczyk FZ. All progestins are not created equal. *Steroids*. 2003;68(10–13):879–90.
45. Bitzer J. Statement on combined hormonal contraceptives containing third or fourth-generation progestogens or cyproterone acetate, and the associated risk of thromboembolism Johannes Bitzer Cosignatories. *J Fam Plan Reprod Heal Care*. 2013;39(3):156–9.
46. Duijkers IJM, Klipping C, Zimmerman Y, Appels N, Jost M, Maillard C, et al. Inhibition of ovulation by administration of estetrol in combination with drospirenone or levonorgestrel: Results of a phase II dose-finding pilot study. *Eur J Contracept Reprod Heal Care*. 2015;20(6):476–89.
47. Douxfils J, Klipping C, Duijkers I, Kinet V, Mawet M, Maillard C, et al. Evaluation of the effect of a new oral contraceptive containing estetrol and drospirenone on hemostasis parameters. *Contraception* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Jun 4];102(6):396–402. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32956694/>
48. Morimont L, Dogné JM, Douxfils J. Letter to the Editors-in-Chief in response to the article of Abou-Ismaïl, et al. entitled “Estrogen and thrombosis: A bench to bedside review” (*Thrombosis Research* 192 (2020) 40-51). *Thromb Res* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2022 Jun 4];193:221–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32798963/>

49. Morimont L, Haguët H, Dogné JM, Gaspard U, Douxfils J. Combined Oral Contraceptives and Venous Thromboembolism: Review and Perspective to Mitigate the Risk. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2021 Dec 9 [cited 2022 Jun 6];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34956081/>
50. Apter D, Zimmerman Y, Beekman L, Mawet M, Maillard C, Foidart JM, et al. Estetrol combined with drospirenone: an oral contraceptive with high acceptability, user satisfaction, well-being and favourable body weight control. *Eur J Contracept Reprod Heal Care*. 2017;22(4):260–7.
51. Gaspard U, Taziaux M, Mawet M, Jost M, Gordenne V, Coelingh Bennink HJT, et al. A multicenter, randomized study to select the minimum effective dose of estetrol (E4) in postmenopausal women (E4Relief): part 1. Vasomotor symptoms and overall safety. *Menopause*. 2020;27(8):848–57.
52. Richards C. Protecting and Expanding Access to Birth Control. *N Engl J Med*. 2016;374(9):801–3.
53. Nudy M, Chinchilli VM, Foy AJ. A systematic review and meta-regression analysis to examine the ‘timing hypothesis’ of hormone replacement therapy on mortality, coronary heart disease, and stroke. *IJC Hear Vasc* [Internet]. 2019;22:123–31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2019.01.001>
54. Palacios S, Stevenson JC, Schaudig K, Lukasiewicz M, Graziottin A. Hormone therapy for first-line management of menopausal symptoms: Practical recommendations. *Women’s Heal*. 2019;15.
55. De Villiers TJ, Gass MLS, Haines CJ, Hall JE, Lobo RA, Pierroz DD, et al. Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy. *Climacteric*.

2013;16(2):203–4.

56. Christante D, Pommier SE, Garreau J, Muller P, LaFleur B, Pommier R. Improved breast cancer survival among hormone replacement therapy users is durable after 5 years of additional follow-up. *Am J Surg*. 2008;196(4):505–11.
57. Lumsden MA, Davies M, Sarri G, Aspray T, Holloway D, Hope S, et al. Diagnosis and management of menopause: The National Institute of Health and Care Excellence (NICE) guideline. *JAMA Intern Med*. 2016;176(8):1205–6.
58. Cagnacci A, Venier M. The Controversial History of Hormone Replacement Therapy. *Medicina (Kaunas)* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2022 Jun 20];55(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31540401/>
59. Benoit T, Valera MC, Fontaine C, Buscato M, Lenfant F, Raymond-Letron I, et al. Estetrol, a Fetal Selective Estrogen Receptor Modulator, Acts on the Vagina of Mice through Nuclear Estrogen Receptor  $\alpha$  Activation. *Am J Pathol* [Internet]. 2017;187(11):2499–507. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.07.013>
60. Visser M, Coelingh Bennink HJT, Kloosterboer HJ. Estetrol prevents and suppresses mammary tumors induced by DMBA in a rat model. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2012;9(1):95–103.
61. Abderrahman B, Maximov PY, Curpan RF, Fanning SW, Hanspal JS, Fan P, et al. Rapid Induction of the Unfolded Protein Response and Apoptosis by Estrogen Mimic TTC-352 for the Treatment of Endocrine-Resistant Breast Cancer. *Mol Cancer Ther* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Jun 6];20(1):11–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33177154/>

62. Schmidt M, Lenhard H, Hoenig A, Zimmerman Y, Krijgh J, Jansen M, et al. Tumor suppression, dose-limiting toxicity and wellbeing with the fetal estrogen estetrol in patients with advanced breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2022 Jun 6];147(6):1833–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33242131/>
63. Coelingh Bennink HJT, Verhoeven C, Zimmerman Y, Visser M, Foidart JM, Gemzell-Danielsson K. Pharmacodynamic effects of the fetal estrogen estetrol in postmenopausal women: Results from a multiple-rising-dose study. *Menopause*. 2017;24(6):677–85.
64. Kluff C, Zimmerman Y, Mawet M, Klipping C, Duijkers IJM, Neuteboom J, et al. Reduced hemostatic effects with drospirenone-based oral contraceptives containing estetrol vs. ethinyl estradiol. *Contraception* [Internet]. 2017;95(2):140–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2016.08.018>

## 11. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODACI:

Ime i prezime: Tina Stanković

Datum i mjesto rođenja: 12.06.1996., Zagreb

### OBRAZOVANJE

2003./2004.-2006./2007.- Osnovna škola Luka, Zagreb

2007./2008.-2010./2011. – Osnovna škola Antun Gustav Matoš, Zagreb

2011./2012.- 2014./2015.- III. gimnazija, Zagreb

2016./2017.-2021./2022.- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

### POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE

Strani jezici: engleski i njemački jezik u govoru i pismu